

TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN

ZUR FRAGE DER LEBERREGENERATION NACH TEILHEPATEKTOMIE

BEI MITOSEHEMMUNG DURCH COLCHIZIN

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Johannes Gutenberg-Universität

in Mainz

vorgelegt von

WOLFGANG HERBERT

aus

Bischofsheim/Hessen



MAINZ 1961

Dekan: Professor Dr. Dr. M. Herrmann
Referent: Professor Dr. Dr. W. Busanny-Caspari
Korreferent: Professor Dr. H. Bredt
Tag der mündlichen Prüfung: 10. Mai 1961

GESAMTHERSTELLUNG:

DITTERS BÜRODIENST, MAINZ, Augustinerstr. 64-66

MEINEN LIEBEN ELTERN

IN DANKBARKEIT

GEWIDMET

EINLEITUNG

Anlässlich einer Serie von Kerngrößen- und Kernvolumenmessungen an den Parenchymzellen der nach Teilhepatektomie belassenen Restleber bei weißen Ratten beobachtete BUSANNY-CASPARI, daß schon wenige Minuten nach der Operation eine erhebliche Kernvergrößerung auftritt, als deren Ursache ein funktionelles Kernödem im Sinne BENNINGHOFFs anzusehen ist. Etwa drei Stunden nach der Operation gleichen die Meßergebnisse wieder den Werten der normalen Leber einer nicht operierten Ratte, allerdings findet sich eine bedeutende Mengenzunahme der zweikernigen Leberzellen.

Anschließend setzt 18 - 24 Stunden post operationem eine lebhafte mitotische Zellteilung ein. Ihr zahlenmäßiges Maximum beobachtet man etwa am zweiten Tag. Gleichzeitig sind, besonders um die 36. Stunde, in größerer Anzahl polyploide Kerne zu erkennen.

Die Mehrzahl der Autoren berichtet, daß der Mitose bei der Regeneration der Leber die wesentlichste Bedeutung beizumessen ist. Wie aber die vorhergehende Mengenzunahme der doppelkernigen Zellen ohne Nachweis mitotischer Teilungen zeigt, müssen auch andere Vermehrungsvorgänge, zumindest der Kerne, im Spiele sein. Hierbei handelt es sich wahrscheinlich um amitotische Kernteilungen. Der Leberrest dürfte demnach die Regeneration auf mehr als eine Teilungsart bestreiten.

Wir legten uns deshalb die Frage vor, ob sich die Restleber auch zur vollen Ausgangsgröße regenerieren kann, wenn man eine Teilungsart unterbindet. Die Möglichkeit der Verhinderung einer Teilung ist einstweilen nur von der Mitose bekannt; daher beabsichtigten wir, die Mitosen während der Regeneration zu blockieren. Wenn es unter diesen Bedingungen zu einer Regeneration kommen sollte und die Tiere den Eingriff überlebten, könnte das Ergebnis neue Einblicke in die Regenerationsmöglichkeit der Leber geben. Dabei mußten wir uns vor Augen halten, daß es vermutlich sehr schwierig zu entscheiden sein wird, ob es sich im Endergebnis um Amitosen oder um abartige Mitoseformen handelt, die eine Vergrößerung des Restorgans herbeiführen können. Doch war die Frage, ob überhaupt eine Regeneration zustande kommt, schon einer Untersuchung wert.

Wir beschlossen, diesen Fragen zunächst in einem klein angelegten Tierversuch nachzugehen. Als Versuchstiere wählten wir männliche weiße Ratten. Zur Blockierung der Mitose verwendeten wir ein dem Colchizin nahe ver-

wandtes Nebenalkaloid der Herbstzeitlosen, das Demecolcin. Nach den geprüften Literaturangaben soll es in keinerlei Beziehung zur Funktion der Leber treten.

Bevor die skizzierten Versuche selbst dargestellt und ausgearbeitet werden, sollen die Kenntnisse über die Leberregeneration nach Teilhepatektomie referiert werden, wobei einige der ältesten Veröffentlichungen Beachtung finden. Weiter wird auf die Problematik von Mitose und Amitose eingegangen und kurzgefaßt über die pharmakologischen Eigenschaften des Zytostatikums Colchizin, soweit sie für unsere Untersuchungen von Bedeutung sind, berichtet.

DIE LEBERREGENERATION NACH TEILHEPATEKTOMIE

Die Leber besitzt die Fähigkeit, größere Gewebsverluste innerhalb kurzer Zeit ohne wesentlichen Funktionsausfall bis zu ihrer vollen Normalgröße zu regenerieren. V. MEISTER berichtet, daß PODWYSSOZKI 1885 in großangelegten Tierversuchen mit weißen Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen und Katzen einen Teil des Lebergewebes durch Verletzungen, Quetschungen und Stiche zerstörte. Danach habe er eine starke Regeneration der Leber, auch in Gewebsteilen, die vom Ort der Schädigung entfernt lagen, mit anfänglicher Zellkernvergrößerung und folgender Zellvermehrung unter Mitosebildung beobachtet. Teilweise seien auch mehrkernige Zellen aufgetreten.

Die meisten Untersuchungen wurden an Nagern, insbesondere an Ratten und Kaninchen, gemacht. Diese vertragen die partielle Leberresektion - man entfernt etwa zwei Drittel bis drei Viertel der Leber - recht gut und erholen sich rasch. Die Frage, ob jedoch die für Nager gefundenen Ergebnisse auch für andere Tiere bzw. den Menschen zutreffen, ist nach BENNINGHOFF (b) noch offen, da sich die Angaben vieler Autoren widersprechen.

PONFICK berichtet 1889 von erfolgreichen Drei-Viertel-Resektionen der Leber bei Kaninchen. V. MEISTER gibt an, daß ihm bei Ratte, Kaninchen und Hund Vier-Fünftel-Resektionen gelangen, wobei der Parenchymverlust in 45 - 60 Tagen regeneriert wurde.

Von weiteren Versuchen wird bei HERXHEIMER und THÖLLE berichtet. Bereits um 1889 - 1900 weisen die Autoren auf die starke Mitoseaktivität der regenerierenden Leber hin. Dabei erwähnt PONFICK, daß Mitosen normalerweise so schnell ablaufen, daß man sie nur zufällig im histologischen Präparat überraschen kann. LINZBACH (b) zitiert BULLOUGH, der bemerkt hatte,

daß Mitosen auch nach der Gewebsentnahme rasch zu Ende laufen können.

Der Vorgang der Leberregeneration nach Teilhepatektomie wurde von zahlreichen Autoren beobachtet und beschrieben. Den folgenden Zeilen liegen im wesentlichen Berichte von HARKNESS, STARY und BUSANNY-CASPARI zugrunde, die Zweidrittelresektionen durchführten.

An der Leber von getöteten Tieren zeigen sich schon wenige Stunden nach der Operation histologische Veränderungen, die auf den Beginn einer Regeneration hindeuten. Nach drei Tagen hat die Restleber ihr Gewicht verdoppelt, also zwei Drittel des Ausgangsgewichtes wiedererlangt. Zehn Tage nach der Teilhepatektomie ist das Ausgangsgewicht erreicht; histologisch bestehen jedoch noch Abweichungen gegenüber der normalen Leber. In drei bis vier Wochen ist die Regeneration beendet, nur das periportale Bindegewebe benötigt noch etwas Zeit, um seinen normalen Stand zu erlangen.

Schon wenige Stunden nach dem Eingriff schwellen die Kerne und Zellen der belassenen Restleber um 50 - 100% ihres Volumens an. Den resultierenden Endzustand an den Kernen bezeichnet BENNINGHOFF (a) als funktionelles Kernödem, da es sich dabei nicht um eine Eiweißkörpervermehrung, sondern um ein Ödem handelt, das als Reaktion auf eine stärkere funktionelle Belastung angesehen wird. Als Folge der rasch einsetzenden Zellvergrößerung beobachtet man eine Verengerung der Sinusoide und damit ein Absinken der Gesamtblutmenge im Restorgan auf etwa die Hälfte des Normalwertes. - Das Kernödem ist relativ flüchtig, es wird von einer Phase der Kernverdoppelung abgelöst; auch diesen Vorgang betrachten viele Autoren als Zeichen einer besonderen Zelleistung, denn die Kernverdoppelung der stärker beanspruchten Zelle führt zu einer Vergrößerung der Kernoberfläche und damit zu einer besseren Stoffaustauschmöglichkeit zwischen Kern und Zellplasma.

Knapp 24 Stunden nach der Operation setzt recht plötzlich eine heftige Mitotätigkeit in der gesamten Restleber ein, die ihr Maximum nach etwa 30 Stunden, also am zweiten Tag, erreicht. Die lebhafteste Zellteilung beginnt am Rande der Leberläppchen, indem sich die Leberzellbänke verlängern. Sie breiten sich in dieser Form über das ganze Leberläppchen aus; die länger und länger wachsenden Zellbänke verzweigen sich und formieren sich zu neuen Leberläppchen. Im Stroma, den Blutgefäßwänden und Gallenganges-epithelien zeigen sich im Verhältnis zum Parenchym zahlenmäßig weniger Mitosen, auch tritt deren Maximum hier ein wenig später als im Parenchym auf.

Für die letzten Abschnitte der Regeneration weichen die Meinungen einzel-

ner Autoren voneinander ab. HARKNESS und Mitarbeiter haben die entstehenden Kernzahlen mit den Mitosemengen verglichen und behaupten, daß auf Grund ihres konstanten Verhältnisses zueinander keine Notwendigkeit einer andersartigen Kernvermehrung, etwa durch Amitose, bestehe. Dagegen berichtet GRIFFINI schon 1884 von direkten Kernteilungen (Amitosen), die er neben reichlichen Mitosen im regenerierenden Lebergewebe beobachtet hat. JERUSALEM und ZAKI stellten in letzter Zeit fest, daß die Mitosemengen allein in keinem Verhältnis zur Volumenvergrößerung des Leberparenchyms stehen. ZAKI hatte gesehen, daß auch nach dem Mitosemaximum am zweiten und dritten Tag die Leberregeneration weiterlief. Dabei handelte es sich in allen Fällen um Regenerationsprozesse, die nicht durch irgendwelche Substanzen wie Hormone oder Zellgifte beeinflußt worden waren.

Übereinstimmend wird jedoch berichtet, daß die lebhaftes Mitosenbildung sehr rasch wieder nachläßt und schon ungefähr vom sechsten Tag ab kaum noch eine Mitose zu finden ist. Inwieweit sich die Kernzahl durch eine Zellteilung der anfangs häufig zwei- und selten mehrkernigen Zellen reguliert, ist ungeklärt. Die einkernigen Zellen fallen teilweise durch das ungewöhnlich große Volumen ihrer Kerne auf. Dies wird heute allgemein als Ausdruck einer Polyploidie angesehen. - Erst die letzte Phase, die nach drei bis vier Wochen abgeschlossen ist, führt zu einer Normalisierung der Kernvolumenklassen. Bis auf einen geringen mengenmäßigen Rückstand des Leberstromas kann nun die Regeneration als abgeschlossen betrachtet werden.

In der Phase der Kernverdoppelung, die zeitlich vor der gehäuften Mitose-tätigkeit eintritt, werden keine Mitosen beobachtet. Nach der Ansicht der meisten Autoren (JACOB (b), BENNINGHOFF (a), MÜNZER (b), WASSERMANN, TOBLER) haben wir es mit einer Kernvermehrung durch Amitose zu tun, über die im nächsten Kapitel noch gesprochen werden soll. PFUHL (zit. n. LINZBACH (b)) soll allerdings festgestellt haben, daß doppelkernige Leberzellen außer durch Amitose auch durch abortive Mitosen ohne Zellteilung zustandekommen. Auch BUCHER, BEAMS und KING raten hinsichtlich der Auffassung, daß zweikernige Leberzellen grundsätzlich amitotisch entstehen, zu Zurückhaltung.

Am Rande sei vermerkt, daß sich schon etwa ein bis zwei Wochen nach der Teilhepatektomie die chemische Zusammensetzung der Leber fast wieder normalisiert hat. Der anfangs erhöhte Ribonukleinsäuregehalt sinkt wieder zur Norm ab, nur die Desoxy-Ribonukleinsäuren, die zu Beginn stark vermindert sind, können mehrere Wochen lang in erhöhter Menge nachgewiesen werden.

MITOSE UND AMITOSE

Die als Arbeitshypothese aufgestellte Annahme, daß die regenerierende Leber nicht nur von einer Zellteilungsform, sondern von Mitose und Amitose - zum Beispiel in Form von Doppelkernbildung - Gebrauch mache, erfordert, die besonderen Eigenarten dieser Teilungsmechanismen kurzgefaßt zu besprechen.

In der Literatur wird die Mitose noch häufig als indirekte, die Amitose als direkte Teilung bezeichnet. Die Mitose stellt die genauer bekannte und in den Lehr- und Handbüchern eingehendst beschriebene Teilungsform dar. Sie bietet, von seltenen Ausnahmefällen abgesehen, offenen Einblick in alle Einzelheiten ihres Teilungsmechanismus'. Demgegenüber sind über der Amitose noch heute nicht die letzten Schleier gelüftet. BUCHER weist darauf hin, daß WASSERMANN im Handbuch der mikroskopischen Anatomie unvergleichlich viel mehr über die Mitose als über die Amitose berichtete. Die wesentlichste Eigenart der Mitose gegenüber der Amitose ist bereits in ihrem Namen enthalten. Jede Kernteilung oder sogar Kernvergrößerung, in deren Verlauf auch nur kurzfristig Chromosomen auftreten bzw. eine Chromatinzeichnung ("Faden"-Zeichnung) sichtbar ist, wird als Mitoseform angesehen (JACOB (b), WASSERMANN, JERUSALEM).

Unter physiologischen Bedingungen führt die Mitose immer zur Zellteilung (JACOB (b), MÜNZER (a), CLARA, zit. n. PFUHL). Es werden bisweilen Mitoseformen beobachtet, die auf Grund irgendeiner Störung ohne Zellteilung einhergehen oder sich sogar nach teilweiseem Ablauf aus einer frühen Phase heraus wieder zum Ruhekern restituieren (HEIDENHAIN, zit. n. BENNINGHOFF (a)). Unter anderem bewirken Mitosegifte solche Störungen. Zum Beispiel unterdrückt Colchizin bei der Zellteilung die Spindelbildung, so daß sich die Mitose ohne Teilung zur Ruheform des Kernes zurückbildet. Solche Arten werden als "abortive" oder "rückläufige" Mitosen bezeichnet (HEIDENHAIN, zit. n. JERUSALEM).

Gelegentlich sieht man auch polyploide und polymorphe Kerne nach derartigen gestörten Mitoseabläufen.

Kommt es dabei ohne Zellteilung zur Teilung des Kernes, so spricht HEIDENHAIN (zit. n. JERUSALEM) von "endoplasmatischen Mitosen"; eine Zweiteilung der Chromosomen bzw. ihrer Äquivalente ohne Bildung einer Spindel und ohne Zell- und Kernteilung bezeichnet GEITLER (zit. n. BUCHER) als "Endomitose". Als Kriterium für die Bezeichnung "Mitose" gilt, wie gesagt, in jedem Fall das auch nur kurzfristige Auftreten von Chromosomen bzw. einer Chromosomenzeichnung.

Die Mitose wird als natürlicher Vorgang zur Zellvermehrung betrachtet. Sie setzt für die Dauer ihres Ablaufs die Stoffwechselarbeit der Zelle vollkommen außer Betrieb, sie gibt sogar schon kurz vorher ihre Speicherprodukte - z.B. die Leberzelle das Glykogen - ab, da sie der Mitose hinderlich wären (PETER und MANWARING, zit. n. PFUHL).

Auf die verschiedenen Einflüsse, die die Zelle zur Mitose anregen können - wie Hormone, Fermente oder Chemikalien - soll hier nicht eingegangen werden, aber auf die interessante Erwägung von JERUSALEM, daß eine aktive Drosselung der Zellfunktion vielleicht eine Mitose auslösen könnte, sei in diesem Zusammenhang hingewiesen.

Die Amitose, also Nicht-Mitose oder "direkte Teilung", wird von BEN-NINGHOFF (a) als Maßnahme zur Vergrößerung der Kernoberfläche bei erhaltener Ruhestuktur angesehen. Nach Ansicht vieler Autoren soll die Amitose im erwachsenen Organismus nicht vorkommen, jedoch kann ihre Existenz inzwischen auf Grund zahlloser Veröffentlichungen nicht mehr bestritten werden. BUCHER, ein ausgezeichnete Kenner dieser Problematik, hat sich mit dem Schrifttum eingehend und kritisch auseinandergesetzt. In seiner Schrift "Die Amitose der tierischen und menschlichen Zelle" hat er alle Arbeiten berücksichtigt, die seit der WASSERMANNschen Veröffentlichung über Mitose und Amitose erschienen sind.

Nach BUCHER haben wir es bei der Amitose mit einer Teilungsform zu tun, die im Gegensatz zur Mitose meistens keine Zellteilung zur Folge hat und sich in vielfältiger Weise äußert. Die Frage der amitotischen Zellteilung ist sehr umstritten, da man den Vorgang der Zelldurchschnürung naturgemäß nur sehr schwer nachweisen kann.

Als wesentlichstes Unterscheidungsmerkmal gegenüber der Mitose gilt das Ausbleiben der Fadenmetamorphose. Der Teilungsmechanismus ist, soweit bekannt, relativ unkompliziert und wird in seinen unterschiedlichen Formen, die zur Kernteilung führen, folgendermaßen beschrieben:

1. Der Kern streckt sich ohne offensichtliche innere Veränderungen und zeigt eine Hantel- oder Sanduhrform, danach trennen sich beide Teile als Tochterkerne ("Distraktion").
2. Ohne Gestaltsveränderung faltet sich die Kernwand ein und teilt den Kern ("Dissektion").
3. Von einer Seite her bildet sich in der Mitte eine Abflachung, die den

Kern niierenförmig umgestaltet und zunächst noch ein Hin- und Hergleiten des Kerninhalts gestattet. In dieser Abflachung entsteht manchmal ein Loch, das sich vergrößert. Danach lösen sich beide Tochterkerne voneinander. Diese Form wird heute als der häufigste Teilungsmechanismus betrachtet (BUCHER).

4. An einer Stelle des Kern bildet sich zuerst eine kleine Ausstülpung, in die sich der Kerninhalt bis ungefähr zur Hälfte hineinschiebt ("Kernknospung").

Bei allen Arten werden in den Tochterkernen Kernkörperchen beobachtet, jedoch soll nach neueren Berichten eine Teilung der Kernkörperchen nicht unbedingt auf eine Amitose hinweisen (BUCHER).

Weiter wurde eine Form der Amitose beschrieben, die sich nicht in einer Kernteilung, sondern in einer Kernvergrößerung auf das doppelte Ausgangsvolumen äußert (BENNINGHOFF (a), CLARA). Auch hier wurde in letzter Zeit die Möglichkeit erörtert, daß es sich dabei nicht um Amitosen, sondern um endomitotische Kernvergrößerungen handeln könnte (BUCHER).

Entsprechend dem Begriff "Endomitose" lag es zunächst nahe, alle Amitosen, die keine Zellteilung nach sich ziehen, als "Endo-Amitosen" (CLARA) oder "endoplasmatische" Amitosen zu bezeichnen. Da aber sowieso die Amitose nur selten zur Zellteilung führt (PFUHL, CLARA, JERUSALEM) - eine Ausnahme bilden die embryonalen Fibroblasten -, ist dies nicht unbedingt notwendig. Eine Unterscheidung sollte aber zwischen denjenigen Amitosen, die eine Kernvergrößerung und Kernvermehrung zur Folge haben, getroffen werden. Daher bezeichnete CLARA die Form der Kernteilung als "Phänoschisis", die Form der "endonukleären" Amitose mit Kernvergrößerung als "Endoschisis".

Während die Endomitose unter physiologischen Verhältnissen kaum oder garnicht vorkommt, können als Beispiel für die Endoamitose mehrere Vorgänge angeführt werden. JACOBJ (a) stellte fest, daß in den Leberzellen bestimmte Kerngrößen am häufigsten auftreten, deren Volumina sich ziemlich genau wie 1:2:4:8 verhalten, wobei die Größenklasse 2 mit den sogenannten "Regelkernen" den Hauptanteil stellt. Diese schubweise Vergrößerung der Kerne im Verhältnis 1:2 soll auf einer amitotischen Endoschisis beruhen, die damals von JACOBJ als "innere Teilung" bezeichnet wurde.

Auch die Zweikernigkeit von Leberzellen ist nach JACOBJ (a), MÜNZER, BENNINGHOFF (a), WASSERMANN, TOBLER u. a. die Folge amitotischer Teilungen. BUCHER jedoch gibt an, daß diese Auffassung in neuerer Zeit nicht

als sicher erwiesen betrachtet werden kann.

HEITZMANN beobachtete in einem Fall von Sublimatvergiftung in der Leber neben Mitosen auch Figuren der direkten Kernteilung in allen amitotischen Stadien; er faßte hier die Amitose als Regenerationserscheinung auf.

Amitotische Teilungen wurden weiter im Harnblasenepithel, im Perikard-epithel und in der Descemet'schen Membran des Pferdes beschrieben (BENNINGHOFF (a)). LINZBACH (a) und HORT stellten fest, daß sich die menschlichen Herzmuskelkerne kurz nach der Geburt amitotisch verdoppeln.

Gelegentlich bieten sich Verwechslungsmöglichkeiten der Mitose oder ihrer Abarten mit der Amitose. Nach BUCHER ist diese Möglichkeit so groß, daß in letzter Zeit etwas Unsicherheit in der Amitoseforschung aufkam und mancher ältere Befund einer Amitose nun mit Vorsicht bewertet werden muß. Zum Beispiel können vorübergehende Einschnürungen des Kerns, Segmentierung, mitotische Zweikernigkeit, abnorme Kernformen während der Mitose, Pseudo-Amitosen (durch Strahlungen oder Gifte geschädigte Mitosen) und Kernverschmelzungen, die der Amitose entgegengesetzt verlaufen, als Amitosen angesprochen werden (WASSERMANN, BENNINGHOFF (a), BUCHER).

Nun ergibt sich die Frage, was die Zelle zur Amitose veranlaßt. Daß die Natur nicht wahllos hier zur mitotischen, dort zur amitotischen Vermehrung greift, wurde in vielfältigen Untersuchungen bewiesen.

Ganz im Gegensatz zur Mitose wurde die Amitose früher als minderwertige Teilungsform betrachtet, deren Auftreten dem baldigen Untergang eines Gewebes vorausgehe. Man beobachtete sehr richtig, daß in kurzlebigen Geweben wie z. B. der Dezidua, den embryonalen Hüllen und auch in absterbenden Geweben oder unter schlechten Lebensbedingungen mit erhöhter Stoffwechselbeanspruchung Amitosen auftraten (WASSERMANN).

Die Amitose hat gegenüber der Mitose den bedeutenden Vorteil, ohne Störung der Zellfunktion abzulaufen (PFUHL). Dagegen ist, wie schon angedeutet, die Zelle während der mitotischen Teilungsvorgänge nicht in der Lage, eine Stoffwechsel-, Sekretions-, Resorptions- oder Speicherungstätigkeit auszuüben.

Daher greift die stärker belastete Zelle, die unter allen Umständen ihre Kern-Plasmarelation aufrechterhalten muß, vor allem bei primärer Zellplasmavermehrung unter der Belastung zur Kernvergrößerung oder besonders Kernverdoppelung (PFUHL), wahrscheinlich durch Amitose.

Selbstverständlich finden sich in zugrundegehenden Geweben auch Amitosen, aber der Grund hierfür ist nicht das Absterben des Gewebes, sondern sind die ungünstigen Bedingungen und die stärkere Beanspruchung, die durch die Verschlechterung der Lebensvorgänge wie das Nachlassen der Blutversorgung und der damit verbundenen Stoffwechselbeeinträchtigung der einzelnen Zelle erwachsen (MÜNZER, BENNINGHOFF (a)). MÜNZER (a) erinnert daran, daß in der gutdurchbluteten embryonalen Leber nur einkernige Zellen vorkommen, die aber nach der Geburt, sobald die Leber trotz des Rohstoffreichtums des Pfortaderblutes nur noch relativ schlecht mit Sauerstoff versorgt wird, teilweise langsam zur Zweikernigkeit übergehen, diese soll zuletzt bei Säugern 1 - 20% betragen. Auch postmortal laufen in Geweben häufig noch Amitosen ab.

Es zeigt sich also, daß die Amitose in erster Linie einen Vorgang zur Kernvermehrung darstellt (WASSERMANN). Sie tritt unter ungünstigen Bedingungen auf, um sozusagen die Zelle mit aller Kraft zu befähigen, erhöhten Anforderungen gerecht zu werden. BENNINGHOFF (a) bezeichnet sie als besondere Reaktionsweise der Zelle, was sich in den bisherigen Ausführungen hinreichend begründet findet. Er unterscheidet dabei zwischen "Teilungsamitose", der Amitose im üblichen Sinne, und "Reaktionsamitose", als Folge einer erhöhten Anforderung. Dabei betont er ausdrücklich, man könne die Amitose wohl als Folge einer Beeinflussung, nicht aber als Schädigung der Zelle betrachten. Nach dem Fortfall dieser Beeinflussung greife das wachsende Gewebe häufig auf die Mitose als Teilungsform zurück. LETTRÉ gibt an, daß die Art der Teilung einer Zelle von ihren eigenen Eigenschaften und denen des Milieus, in dem sie sich befindet, abhängig ist.

Die Zellvermehrung ist eine seltenere Erscheinungsform der Amitose, auch kann diese nicht als Hinweis auf degenerative Vorgänge, sondern höchstens als deren gelegentliche Begleiterscheinung angesehen werden.

Übrigens darf nicht übersehen werden, daß amitotisch entstandene Zellen zur Mitose befähigt bleiben (WASSERMANN, BENNINGHOFF (a), BUCHER). Lediglich der Mangel an Notwendigkeit verhindere die Zelle meistens, davon Gebrauch zu machen.

Als Beeinflussung in Richtung auf die Amitose hin können innere und äußere chemische oder physikalische Reize, Steigerung des Betriebsstoffwechsels - mit nachfolgender Überlastung des Cytoplasmas - auf die Zelle einwirken. Da auch die Vermehrung des Zellplasmas, die funktionell bedingt sein kann, eine Amitose durch die Verschiebung der Kernplasmarelation auslöst, könnte

man sich nun folgende Reaktionskette vorstellen: Steigerung des Zellstoffwechsels $\rightarrow$ Überlastung des Zellplasmas $\rightarrow$ Mengenzunahme des Zellplasmas, damit Störung der Kernplasmarelation $\rightarrow$ Amitose.

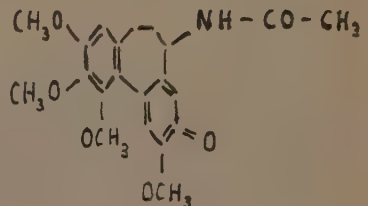
Zum Abschluß dieses Kapitels bleibt festzustellen, daß die Amitose - als Teilungsform betrachtet - keineswegs der Mitose unterlegen sein muß. PETER zeigte sogar, daß eine experimentell beschleunigte Folge von Mitosen zu immer kleineren Kernen führt, da sich diese in der kurzen intermitotischen Pause nicht zur vollen Größe entwickeln können. Dieses Experiment entspricht zwar nicht unbedingt den natürlichen Gegebenheiten, aber es bleiben genügend Gründe, nach denen die Amitose der Mitose gleichzustellen ist. Die Amitose verläuft ohne Störung der Zellfunktion, wobei sie ebenso wie die Mitose die Kernplasmarelation aufrecht erhält (JACOB (b)). Die intakte Kernplasmarelation ist für die Zelle und damit für das Gesamtgewebe ausschlaggebend, ganz gleich, ob die Zelle kleinvolumig ist, wenig Plasma und nur einen mitotisch entstandenen Kern enthält oder ob sie mehr Plasma und einen großvolumigen oder zwei normale Kerne durch Amitose besitzt.

Im Rahmen unserer Versuche mußten wir uns mit dem Zytostatikum "Colcemid" bzw. seinem Ausgangsstoff, dem Alkaloid "Colchizin" befassen. Ein kurzes Kapitel über "Colchizin" ist deswegen den Beschreibungen der Versuche vorangestellt.

COLCHIZIN

Es gibt körpereigene und körperfremde Substanzen, die in der Lage sind, die Teilungsvorgänge einer Mitose weitgehend zu beeinflussen, ja zu unterbinden, so daß die Zelle genötigt ist, noch vor ihrer Teilung wieder in ihre Ruheform zurückzufinden. Oder die Mitose verläuft gestört; sie führt zur Kernvergrößerung und Polyploidie, auch gelegentlich noch als "endoplasmatische Mitose" zu einer Kernverdoppelung. Zu den körperfremden Giftstoffen dieser Art gehört das Colchizin, ein Alkaloid der Herbstzeitlosen.

Die Grundstruktur des Colchizins bildet ein teilweise reduzierter Naphthalinring, der in benachbarter Stellung drei Methoxygruppen trägt. Er zeigt weiter eine vierte, leicht verseifbare Enolmethoxygruppe und eine azetylierte primäre Aminogruppe. Colchizin



reagiert weder sauer noch basisch, aus beiden Medien läßt es sich durch Ausschütteln mit Chloroform isolieren.

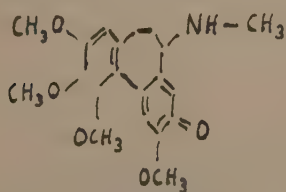
Es entfaltet seine Wirksamkeit im tierischen Organismus nach einer bestimmten Latenzzeit, verursacht keine Antitoxinbildung und erweist sich im Grad seiner Wirkung als deutlich temperaturabhängig; zum Beispiel schädigt es Kaltblüter und Winterschläfer während des Winterschlafs wenig oder garnicht. Als eigentlich wirksame Substanz vermutet man eine im Körper entstehende Oxydform, das Oxy-Dicolchizin (FÜHNER, GEBHARD), womit sich auch die Latenzzeit erklären ließe.

Die letale Dosis beträgt bei subkutaner Injektion für die weiße Maus 3 - 10 mg/kg, für das Kaninchen 3 - 5 mg/kg Körpergewicht, für den Menschen noch weniger. Gewöhnung ist nicht beobachtet worden, bei kurzfristigen Gaben zeigen sich Kumulationserscheinungen.

Hochdosiert führt Colchizin zu Erbrechen, starken Durchfällen, erhöhter Ausscheidung von Harnsäure, Phosphorsäure und Salzen sowie zu Lähmungen der Darmgefäße. Im Tierversuch beobachtet man unter Colchizineinwirkung eine vermehrte Gallensekretion mit starker Gallensäureabgabe. Die entstehende Leukopenie wurde in der Literatur auch mit einer Ansammlung der Leukozyten in Lungen- und Leberkapillaren erklärt, liegt aber wahrscheinlich in dem zytostatischen Effekt begründet.

Aus dem Körper wird Colchizin im Harn, von manchen Tieren auch im Kot ausgeschieden. Eine Nierenschädigung ist dabei nicht ausgeschlossen (EICH-HOLZ). In der durchgesehenen Literatur wird nicht von einer Schädigung anderer Organe berichtet, nur DOMAGK erwähnt, daß in den Leberzellkernen der Maus nach intraperitonealen Gaben "Einschlußkörper" beobachtet wurden, etwa eine Art von vergrößerten Nukleolen, deren Bildung auf eine Störung des Ausschleusungsmechanismus zurückzuführen sei.

Colchizin beeinflusst nicht nur die tierische, sondern auch die pflanzliche Zellteilung. Nach DRUCKREY und Mitarbeitern soll seine Wirkung auf dem



Demecolcin

physikalischen Aufbau des Moleküls, nicht auf der chemischen Eigenart der Restgruppen beruhen. LETTRÉ und FERNHOLZ (s. auch LETTRÉ) machen ebenfalls für diese Tatsache die Struktur bzw. die besondere Anordnung der C- und N-Atome am Strukturgerüst verantwortlich,

bei deren geringfügiger Umgruppierung die mitosehemmende Wirkung schon aufgehoben sei.

Die Beeinflussung der Mitose.

Nach übereinstimmender Ansicht greift Colchizin während der Metaphase ohne Schädigung der Chromosomen in die Bildung der Kernspindel ein, es wird deswegen als Spindelgift bezeichnet (EICHHOLZ, COOK und LOUDON, HEILMEYER und BEGEMANN, OETTEL, DOMAGK u.a.). Den Giften, die wie Colchizin die Teilungsvorgänge direkt stören, stehen die Ruhekerngifte gegenüber; diese schädigen bereits die noch ruhende Zelle und wirken damit einer bevorstehenden Teilung entgegen. Auch Colchizin soll nach LETTRÉ und FERNHOLZ eine geringe Ruhekernwirkung haben.

Im Vordergrund steht allerdings die direkte Mitosewirkung, die u.a. von GERMERSHAUSEN genauer beobachtet und beschrieben wurde.

Die erste Störung durch Colchizin zeigt sich beim Einordnen der Chromosomen in die Äquatorialebene. Die Bildung der Kernspindel, die zum gleichen Zeitpunkt stattfinden müßte, unterbleibt. Die Chromosomen bewegen sich un gelenkt durch den ganzen Kernraum. Deutlich wird die Colchizinwirkung in der frühen Metaphase; die Chromsomen lassen hier einen Trennungsspalt erkennen. Die Windungen der einzelnen Chromatiden werden weiter, diese rollen sich schließlich ganz auf. Zuletzt teilt sich das Zentromer. Eine Anaphase erfolgt nicht. Durch die Teilung der Chromosomen kommt, da die Kernteilung unterbleibt, eine Tetraploidie oder unregelmäßige Polyploidie der Kerne zustande, unregelmäßig deshalb, weil die Spindelstörung nicht immer eine genaue und vollständige Chromosomenteilung zur Folge hat. Als Endzustand resultieren großvolumige, polyploide Kerne, die von TEIR (zit. n. KANTNER) als "typische große Colchizinmitosen" bezeichnet werden.

Bei diesen Versuchen ist zu beachten, daß die Colchizinverabreichung nur einmalig öder kurzfristig erfolgte.

Nach LETTRÉ (s. LETTRÉ und PIRWITZ) und OETTEL liegt die Colchizinwirkung auf die Kernteilung in einer Störung des Adenosintriphosphorsäure-Stoffwechsels in dem kontraktilen System, das als Motor für die Spindelkontraktion angesehen wird, begründet.

Für die im folgenden beschriebenen Versuche wurde ein Nebenalkaloid der Herbstzeitlosen, das dem Colchizin sehr ähnliche Demecolcin, benutzt. Seine Wirkung entspricht nach den Literaturangaben der des Colchizins, nur soll es für den Gesamtorganismus weniger toxisch wirken (SIEGENTHALER). In der

Klinik ist es unter der Bezeichnung "Colcemid" zur Behandlung von chronisch-myeloischen Leukämien als Cytostatikum in Gebrauch.

EIGENE VERSUCHE

VORVERSUCH

Da uns exakte Angaben über die Colcemid-Dosierung im Tierversuch fehlten, versuchten wir eine Dosis zu finden, die die mitotischen Teilungsvorgänge im Tierkörper weitgehend ausschaltete, aber weder direkt noch zusammen mit der Belastung der operativen Leberteilentfernung zum Tode der Versuchstiere führen durfte. Wir beabsichtigten, im Rahmen eines Vorversuchs einigen Tieren in verschiedenen Dosierungen bis zum Auftreten einer Leukopenie Colcemid zu verabreichen.

Wir brachten 6 männliche weiße Ratten von 120 - 140 g Gewicht in einem guttemperierten Raum unter und versorgten sie während des Versuchs ausschließlich mit Wasser und Trockenfutter in Form von Körnern und trockenem Brot. Die Blutentnahme zur Leukozytenkontrolle erfolgte mit Pipetten an der Schwanzspitze, die wir um etwa 2 mm kupierten, wobei für jedes Tier immer die gleiche Pipette verwendet wurde. Als Leukozytenausgangswert benutzten wir den Mittelwert von drei Zählungen vor der ersten Colcemidverabreichung. Vom Zeitpunkt der ersten Verabfolgung ab kontrollierten wir in kurzen Zeitabständen, etwa jeden zweiten Tag die Leukozytenwerte der Testratten. Wir spritzten den Tieren intraperitoneal 22 Tage lang täglich je 0,01; 0,05; 0,1; 0,2 und 0,4 mg Colcemid/100 g Ratte. Ein Tier wurde als Kontrolltier nicht gespritzt.

Im Verlauf der 22 Tage zeigten die Tiere erwartungsgemäß abweichende Reaktionen. Die drei Tiere mit den niedrigsten Dosierungen wiesen wechselnde, teilweise hohe Leukozytenwerte auf, auch das ungespritzte Kontrolltier machte diese Schwankungen mit. Tier 5 mit 0,2 und Tier 6 mit 0,4 mg Colcemid/100 g zeigten eine deutliche Colcemidwirkung, bei Tier 5 sanken die Leukozyten von 8030 über 6300 auf 7500, bei Tier 6 von 7460 auf 2500.

Als Grund für das Ansteigen der Leukozytenwerte von Tier 1, 2 und 3 mußten wir evtl. eine peritonitische Reizung durch das Spritzen, vielleicht auch eine gewisse Anregung der Leukopoese durch die sehr geringe Colcemidmenge, die allerdings nach LETTRÉ und FERNHOLZ von BRUES

und COHEN abgelehnt wird, annehmen. Aber sicher spielte auch die wiederholte Alteration durch die Blutentnahmen eine Rolle, denn das Kontrolltier wies in seiner Leukozytenkurve ebenfalls starke Schwankungen auf, die denen der ersten drei Tiere ungefähr entsprechen.

Tier 6 war gegen Ende des Vorversuchs derart somnolent und apathisch, daß bei seiner Dosierung von 0,4 mg/100 g die zusätzliche Belastung durch die Teilhepatektomie sicher zum Tode geführt hätte, so daß wir uns entschlossen, im Hauptversuch als tägliche Colcemidmenge 0,2 mg/100 g Rattengewicht entsprechend der Dosis von Tier 5 anzuwenden.

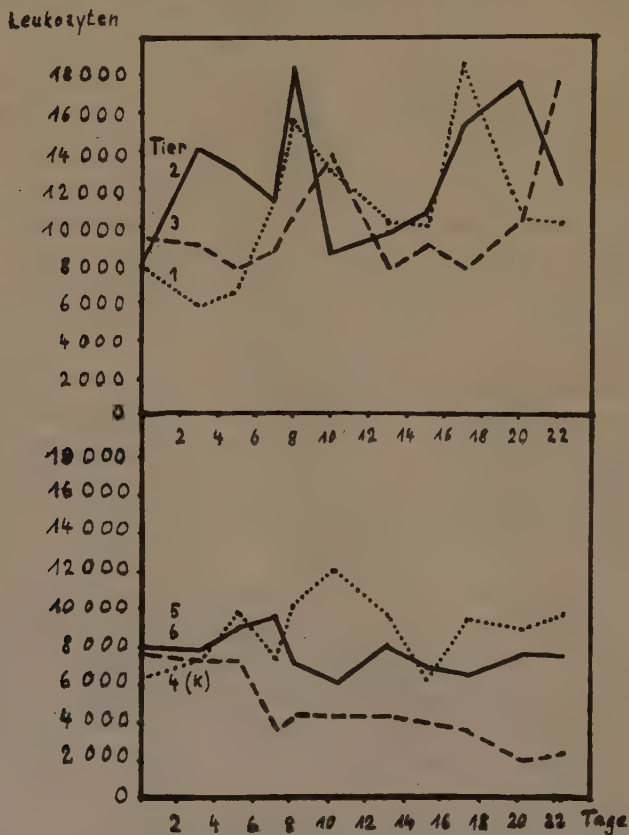


Abb. 1. Leukozytenwerte der Tiere im Vorversuch.

Tier 1: 0,01 Tier 2: 0,05 Tier 3: 0,1

Tier 4: 0,0 (Kontrolltier) Tier 5: 0,2 Tier 6: 0,4 mg Colcemid/100 g Ratte

ERSTER HAUPTVERSUCH

Der Hauptversuch wurde mit 20 Tieren, deren Gewicht zwischen 260 und 330 g lag, angesetzt. Zehn Tiere sollten Colcemid bekommen, zehn weiteren wollten wir die jeweils entsprechende Menge des Lösungsmittels von Colcemid verabreichen.

Die Ställe hielten wir gleichmäßig gut geheizt, die Fütterung entsprach dem Vorversuch. Wir spritzten täglich 0,2 mg Colcemid/100 g Ratte bzw. die entsprechende Lösungsmittelmenge intraperitoneal.

Am fünften Tag wurden den Tieren in Äthernarkose operativ zwei Drittel der Leber entfernt. Ein Tier ging während der Narkose ein. - Wir unterbanden die beiden größeren ventralen der vier Leberlappen mit Catgut und setzten sie ab. Die Lappenstümpfe wurden zur Verhinderung von Nachblutungen mit dem Thermokauter verschorft und mit Topostasin betupft. Den Glykogenverlust glichen wir durch 2,5 ccm zwanzigprozentige Traubenzuckerlösung intraperitoneal aus. Nach Verschließen der Bauchdecken in zwei Schichten wurden die Tiere wieder in die geheizten Ställe gebracht, wo sie sehr bald aus der Narkose erwachten.

Um den Grad der Regeneration und die Häufigkeit der Mitosen im regenerierenden Lebergewebe kontrollieren zu können, sollten die Tiere in bestimmten Zeitabständen getötet werden. Zu den Untersuchungen waren für jeden Zeitpunkt zwei Colcemid- und zwei Kontrolltiere vorgesehen.

Die Colcemid-Tiere erholten sich nach der Operation schlecht. Schon nach kurzer Zeit verendeten einige von ihnen, andere mußten kurz ante finem unabhängig von den festgesetzten Zeitpunkten getötet werden. Zuerst zogen wir vergleichshalber auch einige Kontrolltiere heran, verzichteten dann aber darauf, als wir einsehen mußten, daß der Versuch nicht zu Ende zu führen war.

Den verendeten und getöteten Tieren entnahmen wir die zurückbelassenen Leberreste und wogen diese. Histologische Präparate fertigten wir nicht an, da die letzten Tiere bereits 48 Stunden nach der Operation dekapitiert werden mußten; sie waren für eine Zeit von ca. 14 Tagen nach der Resektion vorgesehen und hätten somit keine Rückschlüsse auf eine langfristige Regeneration zugelassen.

Das Gewicht der entfernten Leber wurde mit durchschnittlich 2,7% des Körpergewichts für die Colchizintiere und 2,43% für die Kontrolltiere errechnet. Die Gesamtleber entspricht gewichtsmäßig bei der weißen Ratte knapp 4%

des Körpergewichts, also wurden bei geringen Extremschwankungen ziemlich genau im Durchschnitt zwei Drittel der Leber entfernt. Die Restlebern zeigten entsprechend ihrer relativ kurzen Regenerationszeit schon eine geringe Gewichtszunahme. Die Tiere selbst hatten in der Zeit vom Beginn der Injektion bis zur Operation einige Gramm an Gewicht verloren.

Schließlich mußten wir uns die Frage vorlegen, was die Ursache für das Verenden der Tiere gewesen sein könnte. Möglicherweise spielt die Leber entgegen den Literaturangaben bei der Ausscheidung oder Verarbeitung von Colchizin doch eine gewisse Rolle, denn die verwendete Colchizinmenge lag nach LETTRÉ und FERNHOLZ weit unter der letalen Dosis von täglich 0,5 mg/100 g Ratte. Oder das Colcemid hatte sich im Tierkörper angesammelt; Kumulation von kurzfristigen Colchizingaben ist bekannt und von FÜHNER beschrieben.

ZWEITER HAUPTVERSUCH

Zum zweiten Hauptversuch benutzten wir wiederum 20 Tiere. Sie wurden ebenso wie im ersten Versuch in zehn Colcemid- und zehn Kontrolltiere eingeteilt. Als tägliche Colcemiddosis setzten wir 0,1 mg/100 g Ratte fest, also die Hälfte von Versuch 1. Jedoch wurde nur zweimal, am ersten und sechsten Tag, in dieser Dosierung gespritzt; alle übrigen Colcemidgaben verringerten wir weiter auf 0,05 mg/100 g pro Tag, um die Sicherheit zu haben, daß die Tiere den Versuch überstehen würden. Das entsprach nun einem Viertel der Dosis vom ersten Versuch, konnte aber infolge der täglichen Verabreichung und der zu erwartenden Kumulation noch als zytostatisch wirksam angesehen werden. Die Bedingungen entsprachen im übrigen denen des ersten Hauptversuchs.

Vor der Operation spritzten wir drei Tage (gegenüber fünf Tagen im Versuch 1) Colcemid bzw. die entsprechende Lösungsmittelmenge. Narkose und Operation wurden in der gleichen Weise wie in Versuch 1 durchgeführt. Sie verliefen ohne Zwischenfälle, im Anschluß daran erholten sich die Tiere gut. Zwei der mit Colcemid gespritzten Tiere gingen in der Nacht zum 5. und 15. Tag ein, wir fanden sie morgens tot in den Ställen (Abb. 1 a, +). Die übrigen Tiere wirkten apathisch und somnolent, wohl durch den Einfluß der Operation und des Colcemids, überstanden aber den Versuch.

Der festgelegte Zeitplan konnte in diesem Versuch eingehalten werden. Nach zwölf Stunden, zwei, fünf, elf und fünfzehn Tagen wurden je zwei Versuchs- und Kontrolltiere getötet. In Abb. 2 sind die Tiere in der Reihenfolge, in der

Abb. 2a. Colcemidtiere

Tier Nr.	getötet nach Tg.	Gew. der entf. Leber	in % v. Ges. Gew.	Gew. d. Restleber	in % v. Ges. Gew.	Anf. Gew. der Tiere	Op. Gew.
C							
37	0,5	8,0 g	2,96 %	4,0 g	1,48 %	270 g	283 g
38	0,5	6,0	2,22	5,0	1,85	270	277
33	2,0	7,5	2,59	7,5	2,59	290	295
34	2,0	8,6	2,96	6,5	2,24	290	289
29	5,0 +	6,5	2,10	10,3	3,32	310	320
21	5,0	9,8	2,65	13,2	3,57	370	382
25	11,0	10,0	2,90	12,0	3,48	345	354
26	11,0	9,7	2,81	14,5	4,20	345	346
22	15,0	8,5	2,36	13,2	3,67	360	375
30	15,0 +	9,0	2,95	9,5	3,11	305	314

Abb. 2b. Kontrolltiere

K							
39	0,5	7,0	2,69	4,5	1,73	260	268
40	0,5	7,4	2,84	4,3	1,65	260	272
35	2,0	7,4	2,60	6,0	2,11	285	302
36	2,0	7,5	2,63	5,5	1,93	285	298
31	5,0	7,5	2,54	9,5	3,22	295	306
32	5,0	8,3	2,81	10,6	3,59	295	295
27	11,0	8,5	2,50	13,0	3,82	330	348
28	11,0	8,0	2,43	13,5	4,09	340	351
23	15,0	9,4	2,61	13,1	3,64	355	364
24	15,0	9,4	2,65	12,3	3,46	360	387

Abb. 2 a und b: Gewichte der resezierten und der teilweise in Regeneration begriffenen Restlebern, Gewichte der Tiere.

wir sie dekapitierten, aufgeführt. Die widerstandsfähigsten Tiere stellten wir ohne Berücksichtigung der laufenden Numerierung bis zuletzt zurück.

Nach dem Töten der Ratten resezierten wir die gesamte Leber, Restleber und regeneriertes Gewebe, wogen sie und errechneten das Verhältnis zum Körpergewicht, denn nur dieser Zahlenwert ist von Bedeutung, da die Tiere nicht das gleiche absolute Gewicht hatten.

Um die Auswertung übersichtlicher zu gestalten, sind in Abb.3 und 4 die Mittelwerte von je zwei Versuchs- bzw. Kontrolltieren dargestellt. Zum Vergleich sind daneben in Abb.3 die Gewichte der entfernten Lebern, ebenfalls als Mittelwerte von je zwei Tieren, noch einmal angeführt. Im Durchschnitt hatten

Abb. 3a. Colcemidtiere

Tier Nr.	gespritzt insgesamt	getötet nach	%Gew.d. entf. Leber Mittelwert	%Gew.d. Restleber Mittelwert	Mit. pro Fl. Einh.	Mittelwert
C						
37	3x v. d.				2	
38	Operation	0,5 Tg.	2,59	1,76	2	2
33	3x v. d.				68	
34	1x n. d. Op.	2,0	2,78	2,42	21	45
29	3x v. d.				132 +	
21	4x n. d. Op.	5,0	2,38	3,45	5	5
25	3x v. d.				4	
26	10x n. d. Op.	11,0	2,86	3,84	2	3
22	3x v. d.				1	
30	14x n. d. Op.	15,0	2,66	3,39	26 +	1

Abb. 3b. Kontrolltiere

K						
39	3x v. d.				4	
40	Operation	0,5	2,77	1,69	4	4
35	3x v. d.				27	
36	1x n. d. Op.	2,0	2,62	2,02	35	31
31	3x v. d.				2	
32	4x n. d. Op.	5,0	2,68	3,41	1	2
27	3x v. d.				8	
28	10x n. d. Op.	11,0	2,47	3,96	1	5
23	3x v. d.				5	
24	14x n. d. Op.	15,0	2,63	3,55	4	5

Abb. 3a und b: Anzahl der Colcemid- bzw. Lösungsmittelgaben, Lebergewichte in Mittelwerten und Mitosezahlen pro Gesamtflächeneinheit der Präparate.

wir den Versuchstieren 2,65 (2,1 - 2,96) Prozent, den Kontrolltieren 2,63 (2,43 - 2,81) Prozent der Leber im Verhältnis zum Körpergewicht entfernt. Mit 2,64 Prozent im Mittel lag der Anteil der entfernten Leber wieder bei zwei Dritteln der Leber.

Der Leberrest vermehrte sich bei Versuchs- und Kontrolltieren zusammen im Mittel in einem halben Tag auf 1,73%, in zwei Tagen auf 2,22%, in fünf Tagen auf 3,43%, in elf Tagen auf 3,90% und in fünfzehn Tagen auf 3,47% des Körpergewichts.

Von der postmortal entnommenen Leber fertigten wir aus den gleichen Stellen der Regenerate zunächst Gefrierschnitte an, die wir mit Hämatoxylin-Eosin und Sudan III/IV färbten. Weiteres entsprechendes Material wurde in Gendre fixiert und in Paraffin eingebettet. Die Gefrierschnitte sollten lediglich zur raschen Orientierung über die Mitosezahlen dienen. Die Paraffinblöcke wurden mit einem Spezialmikrotom zu vollkommen gleich dicken, 7 my messenden Schnitten verarbeitet, die dann für die eingehenden Messungen und Zählungen zur Verfügung standen. Die daraus hergestellten Hämatoxylin-Eosinfärbungen erwiesen sich jedoch nicht für die Kernzählungen als zweckmäßig, da in ihnen die Zellen einiger Tiere wegen ihres dunklen, homogenen Plasmas nur schwer gegeneinander abzugrenzen waren. In einer von BUSANNY-CASPARI mit Hämatoxylin-Phosphor-Wolframsäure modifizierten Färbung ließen sich die Zellgrenzen dann recht gut darstellen. - Da zwei Tiere eingegangen waren, konnte für die Zeit von fünf und fünfzehn Tagen post operationem nur je ein Colcemidtier zur Auswertung kommen.

Zunächst zählten wir die Mitosen. Sie sollten einmal mit dem Gewicht der regenerierenden Leber verglichen werden, zum anderen bestand die Frage, in welchem Verhältnis sie zur Zell- und Kernzahl des Gewebes stehen; daraus mußte zu ersehen sein, wie weit die Zell- bzw. Kernteilungen mit Mitosen in Verbindung zu bringen sind.

Zur einstweiligen Orientierung zählten wir mit Hilfe eines Okularnetzes in den gleich dicken Gefrierpräparaten die Mitosemengen pro Flächeneinheit. Von jedem Tier wurde eine HE- und ein Sudanschnitt mit insgesamt 50 Okularnetzflächen ausgewertet. Als Endergebnis resultieren die Additionswerte der 50 Einzelzählungen pro Tier (Abb. 3 a und b).

In den Paraffinschnitten stellten wir fest, wieviel Mitosen auf 1500 Kerne entfallen. Die Ergebnisse sind in Abb. 5 und 7 festgehalten.

Von den Tieren, die zwei und elf Tage nach der Operation getötet worden

waren, zählten wir in möglichst gleichmäßig dichtem Leberparenchym die Kerne in je 30 Okularnetzflächen der genau 7 my dicken Schnitte aus. Selbstverständlich wurden nur Flächen verwendet, die keine Zentralvenen oder Glisson'schen Felder enthielten (Abb. 6).

Die Blockierung der Mitosen konnte möglicherweise ihren Ausdruck in verschiedenen Kerngrößen der Colcemid- und Kontrolltiere finden. Da außerdem die Kernvolumina in konstantem Verhältnis zum Zellplasmavolumen stehen, maßen wir nun bei den elf Tage p. op. getöteten Tieren die Leberzellkerndurchmesser⁺ zur Errechnung ihrer Volumina⁺⁺. Es wurden je 200 Kerne gemessen. Die aus den Kerndurchmessern der 11-Tage-Tiere errechneten Kernvolumina sind in eine logarithmisch aufgeteilte Kurve eingetragen (nach HINTZSCHE), Abb. 9. Die Kernvolumina faßten wir in Volumenklassen zusammen, die zueinander im Verhältnis 1:2 stehen; der Aufbau der Kurve entspricht damit der Kernklasseneinteilung nach JACOBJ(a). Der Genauigkeit halber sind die Kernklassen in vier Abschnitte unterteilt, in denen die Kernzahlen der entsprechenden drei bis fünf Kernvolumina in Mittelwerten angegeben sind.

Wie in früheren Kapiteln erwähnt, besitzt die Leber zum Teil doppelkernige Zellen. Auf die Frage nach der Größe bzw. der Anzahl der Zellen in der Volumeneinheit kann erst dann eingegangen werden, wenn neben der Anzahl und der Größe der Kerne auch die Zahl der doppelkernigen Zellen annähernd bekannt ist. Wir zählten also in den Präparaten der zwei und elf Tage postoperativ dekapitierten Tiere von je 1000 Zellen die doppelkernigen. Nach BUCHER und GLINOS ergibt das dreifache der ermittelten Zahlen annähernd den wirklichen Anteil der doppelkernigen Zellen. PFUHL stellte Formeln auf, mit deren Hilfe man aus dem ausgezählten Wert und der Schnittdicke die wirkliche Menge der Doppelkernigen errechnen kann. Wir haben im Rahmen dieser orientierenden Untersuchungen auf diese spezielle Methode verzichtet und uns mit einer Verdreifachung begnügt.

Nunmehr war es möglich, anhand der Kernzahlen pro Volumeneinheit des Lebergewebes unter Berücksichtigung des Anteils der doppelkernigen Zellen auf die Zellzahl pro Raumeinheit zu schließen und zwischen Colcemid- und Kontrolltieren Vergleiche ziehen zu können. Die Zellzahlen, die Kerngrößen und die Mitoseziffer mußten vermuten lassen, ob die Regeneration nach wirk-

⁺ 1,0 Längeneinheit = 0,01025 mm.

⁺⁺ Wir wählten diesen Zeitpunkt, da hier die Leber ihre Regeneration in bezug auf ihr Gewicht abgeschlossen hatte.

samer Blockierung der Mitosen durch amitotische Kernteilungen, evtl. Zellteilungen, oder Kernvergrößerungen und Zellvergrößerung bestritten wird.

Ergebnisse:

Die orientierende Auswertung der Gefrierschnitte ergab für die beiden eingegangenen Colcemidtiere stark von den vergleichbaren Tieren abweichende Mitosewerte. Da sie als Sonderfälle zu betrachten sind, verzichteten wir auf ihre Auswertung. In Abb.4 kommen die Additionswerte von jeweils zwei gleichzeitig dekapitierten Tieren zur Darstellung, lediglich die Fünf- und Fünfzehn-Tage-Werte sind Einzelwerte der Tiere C 21 und C 22 ohne Verwendung der eingegangenen Tiere C 29 und C 30 (Colcemidtiere ausgezogen, Kontrolltiere gestrichelt).

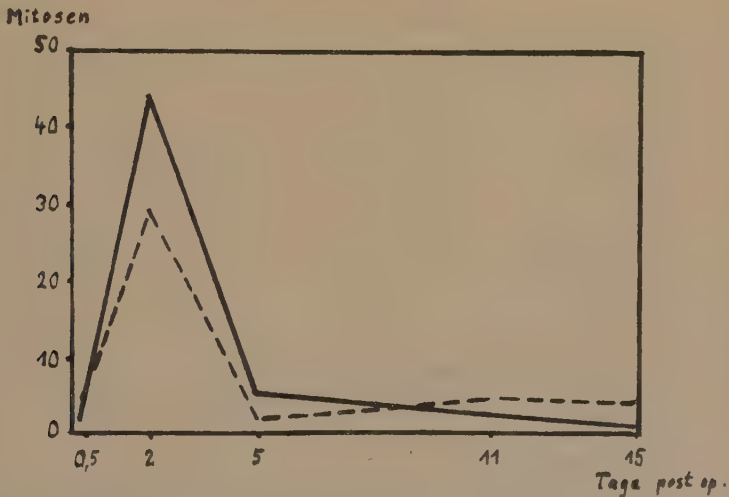


Abb. 4. Mitosewerte in der Flächeneinheit der Präparate.

Die Kurven der C-Tiere und der K-Tiere zeigen annähernd den gleichen Verlauf. Sie steigen bis zum zweiten Tag steil an, erreichen hier ihre Gipfel, der bei den C-Tieren etwas höher als bei den K-Tieren liegt, und fallen bis zum fünften Tag steil ab, um dann flach weiter zu verlaufen.

Ebenso sind die Ergebnisse bei der Auswertung der Paraffinschnitte, also die Mitosezahlen pro 1500 Kerne. Einen halben Tag nach der Teilhepatektomie können keine Mitosen nachgewiesen werden. Nach zwei Tagen zeigen die C-Tiere zusammen im Mittel 99, die K-Tiere 72 Mitosen und damit die höchsten Werte im Verlauf der Regeneration. Bis zum fünften Tag fallen die

Werte von C- und K-Tieren auf neun Mitosen, von da ab verlaufen die Kurven ohne größere Schwankungen zwischen 8 und 23 Mitosen pro 1500 Zellkerne (Abb. 5 und 6).

Abb. 5a. Colcemidtiere

Tier Nr.	getötet nach	% der Restleber Mittelwert	Mitosen pro 1500 Kerne	Mittelwert
C				
37			2	
38	0,5 Tg.	1,76	0	1
33			120	
34	2,0	2,42	78	99
29			0	
21	5,0	3,45	9	9
25			7	
26	11,0	3,84	8	8
22			23	
30	15,0	3,39	0	23

Abb. 5b. Kontrolltiere

K				
39			0	
40	0,5	1,69	0	0
35			63	
36	2,0	2,02	81	72
31			11	
32	5,0	3,41	7	9
27			21	
28	11,0	3,96	10	16
23			8	
24	15,0	3,55	8	8

Abb. 5a und b. Vergleich zwischen den Mitosezahlen pro 1500 Zellen und dem Gewicht der regenerierten Restleber in Prozent vom Körpergewicht.

Vergleicht man das Wachstum der Restleber (Abb. 5) mit den Mitosezahlen, so stellt man fest, daß die Mitosegipfel zeitlich in den Beginn der stärksten Gewichtszunahme der Restlebern fallen. Dies ist ebenfalls aus Abb. 6 zu ersehen.

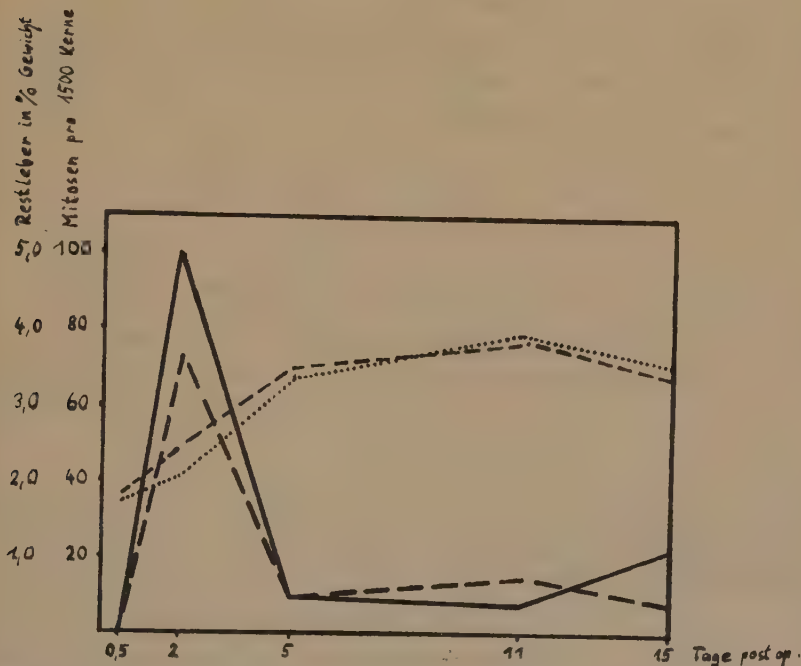


Abb. 6. Graphischer Vergleich von Mitoseziffern (ausgezogen: C-Tiere, grob gestrichelt: K-Tiere) und Restleberwachstum (fein gestrichelt: C-Tiere, punktiert: K-Tiere)

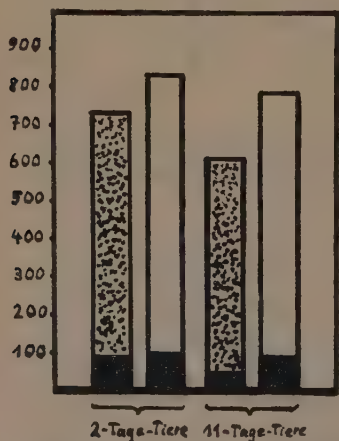
Die Anzahl der Kerne in 30 Okularnetzflächen ist in Abb. 7 wiedergegeben. Zwei Tage nach der Operation sieht man nur einen knappen Unterschied zwischen C- und K-Tieren, wobei die C-Tiere etwas weniger Kerne pro Gesamtflächeneinheit der Präparate als die K-Tiere aufweisen. Bei den Elf-Tage-Tieren dagegen finden wir eine größere Differenz; die C-Tiere bieten erheblich weniger Zellkerne pro Flächeneinheit im Schnitt als die K-Tiere.

An doppelkernigen Zellen fanden wir im Mittel bei den Zwei-Tage-C-Tieren 10,4 Prozent, bei den K-Tieren 11,1 Prozent; die Elf-Tage-C-Tiere

boten 6,2 Prozent, die K-Tiere zur gleichen Zeit 9,9 Prozent der Zellen (Abb. 7 und 8). In Abb. 8 sind die Zahlen der doppelkernigen neben denen der einkernigen Zellen in 30 Okularnetzflächen bildlich dargestellt.

Abb. 7. Zahlen der Kerne, Gesamtzellen und doppelkernigen Zellen in der Volumeneinheit des Lebergewebes.

Tier Nr.	getötet nach	Kerne pro Fl. Einheit	Zellen pro Fl. Einheit Mittelwert	Doppelkernige in %	Doppelkernige in Zahlen
C					
33		846			
34	2,0 Tg.	864	734	10,4	81
K					
35		919			
36	2,0	916	826	11,1	92
C					
25		643			
26	11,0	660	614	6,2	38
K					
27		899			
28	11,0	828	786	9,9	78



Bei den zwei Tage p. op. getöteten Tieren ähneln sich die Anteile der Doppelkernigen, die Elf-Tage-Colcemidtiere zeigen dagegen einen geringeren Prozentsatz doppelkerniger Zellen als die entsprechenden Kontrolltiere, bei denen auch mehr Kerne pro Okularnetzflächeneinheit zu sehen sind.

Abb. 8. Verhältnis der einkernigen zu den doppelkernigen Zellen nach zwei und elf Tagen. Oben: einkernige Zellen; unten: doppelkernige. Punktierte Säulen: C-Tiere. Leeren Säulen: K-Tiere.

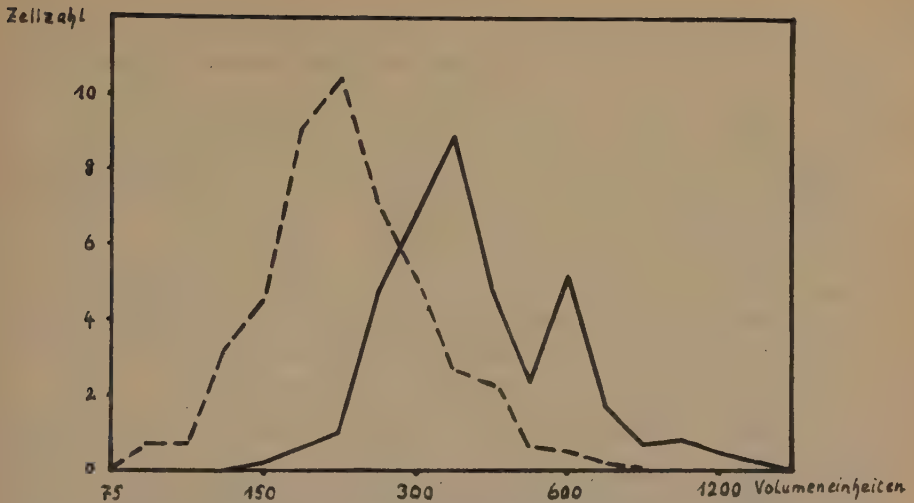


Abb. 9. Zahlen der in Volumenklassen zusammengefaßten Leberzellkerne nach elftägiger Regeneration. Ausgezogene Linie: Colcemid-Tiere, gestrichelte Linie: Kontrolltiere.

In Abb. 9 sind schließlich die Kernvolumina aufgezeichnet. Die Kernklassen sind trotz der kleinen untersuchten Kernzahl recht gut zu erkennen, daneben sieht man einen deutlichen Kerngrößenunterschied zwischen C- und K-Tieren. Die meisten Kerne der C-Tiere liegen im Bereich von 326 bis 388 Volumeneinheiten⁺, während das Maximum der K-Tiere zwischen 163 und 230 zu finden ist. Einen zweiten kleineren Gipfel bieten die beiden C-Tiere bei 549 bis 652 und die K-Tiere bei 388 bis 462 Volumeneinheiten. Daraus ist zu ersehen, daß die Colcemidtiere im Durchschnitt größere Zellkerne als die Kontrolltiere aufweisen. Die Maxima der Kerngrößen stehen nicht genau im Verhältnis 1:2 zueinander. Das beruht wahrscheinlich auf der relativ kleinen untersuchten Kernzahl und ist zunächst für das Gesamtergebnis dieser Arbeit weniger von Bedeutung.

Abschließend seien noch einige allgemeine histologische Beobachtungen angeführt.

Die Zellkerne sind in allen Präparaten gut zu erkennen. Beim Durchsehen

⁺ Diese Zwischenwerte sind nicht eingezeichnet, um die Kurve übersichtlich zu halten.

findet man allgemein bei den Tieren, die kurz nach der Operation getötet wurden, größere Kerne als bei den später dekapitierten; hier wieder zeigen, wie schon erwähnt, die Colchizintiere größere Kerne als die Kontrollen.

Große Mengen von Mitosen springen bei allen Zwei-Tage-Tieren ins Auge. Während die Kontrolltiere Mitosen in verschiedenen Stadien zeigen, sind bei den Colchizintieren vorwiegend Metaphasen und verklumpte oder in Restitution zum Ruhekern begriffene Mitosen zu sehen.

In sehr vielen Kernen aller Tiere ist eine Chromatinzeichnung zu erkennen. Sie weist bei den Kontrolltieren eine fadenartige Beschaffenheit auf, bei den Colcemidtieren dagegen sieht man regelrechte Chromatin"bröckel", manchmal einige größere, stark basophile rundliche Klümpchen.

Die Zellgrenzen erkennt man bei den C-Tieren deutlicher als bei den K-Tieren. Das hellere Zellplasma der C-Tiere ist im allgemeinen bis auf das der Einhalb-Tage-Tiere wabig strukturiert, das dunklere der K-Tiere vorwiegend flockig bis homogen. Die Zellbalken sind überall in den Läppchenzentren gut abgrenzbar, in der Läppchenperipherie gehen sie etwas ineinander über. Die Sinus sind in den Zentren weit, in der Peripherie eng; lediglich bei den eingegangenen Tieren, die nicht ausgeblutet waren, sieht man auch in der Läppchenperipherie weite, blutgefüllte Sinus.

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Zu Beginn der Besprechung müssen wir uns die Frage vorlegen, ob eine ausreichende Beeinflussung der Mitoserätigkeit durch das Demecolcinpräparat stattgefunden hat. Die mit Colcemid behandelten Tiere zeigten gegenüber den Kontrolltieren eine auffallende Somnolenz und Apathie. Die Kontrolltiere standen zwar auch unter dem Eindruck des doch recht erheblichen operativen Eingriffs, wirkten aber nicht so angegriffen wie die Colcemidtiere. Alle C-Tiere litten an zum Teil stärkeren Durchfällen. Zwei C-Tiere gingen post operationem zugrunde. Hier muß also die Belastung durch Operation plus Colchizin für den Organismus nicht mehr tragbar gewesen sein. Die Sektion der Tiere ergab nämlich keine Anhaltspunkte für technische Fehler in bezug auf die Operation; die Operationsverhältnisse waren regelrecht, Nachblutungen hatten nicht stattgefunden. Auch Anzeichen eines hinzugekommenen Infektes konnten nicht nachgewiesen werden.

Daß der Mitosegipfel in beiden Zählungen bei den C-Tieren ein wenig höher

als bei den Kontrolltieren liegt, dürfte weiter für eine Wirksamkeit des Colchizinderivates sprechen. Diese ist wahrscheinlich so aufzufassen, daß eine relative Anhäufung der Mitosen bei den C-Tieren gegenüber den Kontrolltieren durch Blockierung ihres Ablaufs stattgefunden hat. Wie LINZBACH (b) erwähnt, laufen nämlich ungehemmte Mitosen oft noch post mortem im Gewebe zu Ende. - Es ist zu diskutieren, ob eine von MISZURSKY und DOLJANSKI u. a. beschriebene Anregung der Mitosetätigkeit durch geringe Colchizindosen stattgefunden haben könnte. Dem widersprechen allerdings die übrigen Ergebnisse. Zum Beispiel weisen unsere C-Tiere durchweg große Leberzellkerne auf. PETER konnte nachweisen, daß aus Kernen, die sich nach Verabreichung mitosetfördernder Substanzen in schneller Aufeinanderfolge teilen, nach jeder Teilung kleinere Kerne resultieren, da sie sich in der zu kurzen intermitotischen Pause nicht bis zum Erreichen der vollen Ausgangsgröße "erholen" können. - Schließlich verabfolgten wir unseren Tieren täglich wohl kleine, im ganzen gesehen aber doch beachtliche Colcemidmengen. Hier ergäbe sich die Frage, ob der von einigen Autoren nach - meist nur kurzfristiger - Verabreichung kleinerer Colchizindosen beobachtete Mitoseanstieg nicht überhaupt auf Grund einer Hemmung des weiteren Ablaufs zustandekommt, also nur eine relative Vermehrung der Mitosen, bezogen auf den Zeitabschnitt, stattfindet.

Betrachten wir nun unsere Ergebnisse hinsichtlich der Regeneration. Die Kurven der Mitosewerte und des Leberwachstums während der Regeneration zeigen keine grundsätzlichen Unterschiede zwischen C- und K-Tieren. Die Mitosetätigkeit der Gewebe ist in beiden Fällen nahezu die gleiche. Vor allem das Wachstum, gemessen am Gewicht, stimmt genau überein (Abb. 6). Die Wachstumskurve verläuft zunächst steil ansteigend und dann flacher. Das einheitliche geringe Absinken des Lebergewichts am 15. Regenerationstag dürfte mit einem Nachlassen des Blutgehaltes der Leber zu erklären sein. Ein relatives Absinken der Lebergewichte infolge Gewichtszunahme der Tiere kann nicht angenommen werden, da auch die in Abb. 2 angeführten absoluten Lebergewichte zu diesem Zeitpunkt trotz höherer Anfangsgewichte der Tiere C 22, K 23 und K 24 etwas niedriger als die Gewichte am 11. Regenerationstag liegen (Tiere C 25, C 26, K 27 und K 28). - Die größte Gewichtszunahme des Restorgans fällt zeitlich mit der stärksten Mitosetätigkeit zusammen. Das heißt, daß die Mitosetätigkeit normalerweise - in unserem Falle also bei den Kontrolltieren - zu einer Kern- und Zellvermehrung und damit zur Parenchymvermehrung führt.

Sehr aufschlußreich sind die Kernzählungen und Kernmessungen. Nach zwei

Tagen besteht kein größerer Unterschied zwischen den Kernzahlen der C- und K-Tiere pro Volumeneinheit des Parenchyms. Nach elf Tagen finden wir bei den C-Tieren deutlich weniger Kerne im Gewebe (Abb. 7), nach unseren Zählungen ca. 25 Prozent. Unter Berücksichtigung der doppelkernigen Zellen, deren Zahl sich nach zwei Tagen fast gleicht, aber nach elf Tagen bei den C-Tieren niedriger als bei den K-Tieren liegt, entfallen somit auf die Gewebsvolumeneinheit bei den Zwei-Tage-C-Tieren 734 Zellen, bei den K-Tieren 826 Zellen. Nach elf Tagen Regeneration weisen die C-Tiere 614 Zellen, die K-Tiere 786 Zellen auf. Prozentual ausgedrückt heißt das, daß nach zwei Tagen eine Zelldifferenz von ca. 11 %, nach elf Tagen eine von ca. 22 % besteht, wobei die Colchizintiere stets weniger Zellen aufweisen (Abb. 8, punktiert).

Die Werte der Kernvolumina ergänzen diese Ergebnisse. Trotz der kleinen Anzahl der Tiere und der relativ geringen ausgemessenen Kernmenge zeigen die Kurven in Abb. 9 im Sinne JACOBS Anhäufungen der Kerne in bestimmten Volumenklassen, die sich angenähert 1:2 verhalten. Wir stellen fest, daß sich der größte Teil der Kernvolumina bei den C-Tieren zwischen 326 und 388 Volumeneinheiten bewegt, während sich der höchste Gipfel der K-Tiere im Bereich von 163 bis 230 Volumeneinheiten befindet. Damit ist ein sehr großer Anteil der Zellkerne bei den C-Tieren ungefähr doppelt so groß wie der entsprechende Kernanteil der K-Tiere. Dem zweiten, kleineren Gipfel der Kontrolltiere von 388 bis 462 dürfte der zweite Gipfel der C-Tiere von 549 bis 652 Einheiten entsprechen, obwohl er nicht genau in der doppelten Volumenklasse liegt, was wahrscheinlich auf die kleine verwendete Tierzahl zurückzuführen ist.

Die Untersuchungen zeigten also, daß nach elf Tagen in der Volumeneinheit des regenerierenden Lebergewebes bei den Tieren, deren Mitosetätigkeit durch Colcemid weitgehend unterbunden wurde, etwa 22 Prozent weniger Zellen als bei den unbehandelten Kontrolltieren vorhanden sind, während die Gewichte der Organe übereinstimmen. Das bedeutet, daß also ohne sichere mitotische Teilung von Zellen oder Kernen eine erhebliche Vergrößerung des Zellvolumens stattgefunden hat. Bei einer großen Anzahl von Zellen muß sie einer Verdoppelung des Zellplasmas gegenüber dem der K-Tiere gleichkommen, da wie gesagt, große Mengen von Zellkernen bei den C-Tieren das doppelte Volumen der Kontrolltierzellkerne aufweisen.

Die Leber hat sich von einem Drittel des Ausgangsgewichtes und damit -volumens im Verlauf von elf Tagen fast bis zur vollen Normalgröße regeneriert, also zwei Drittel Gewebe neu aufgebaut. Der Zellmenge von 100 Prozent in

der Volumeneinheit, bei den Kontrolltieren stehen aber am elften Tag 78 % Zellen der C-Tiere gegenüber. Wenn die Lebervergrößerung hier ausschließlich auf Zellvergrößerung beruhen sollte, dürften es nur ca. 33 % Zellen sein. Etwas mehr als die doppelte Zellmenge liegt vor, so daß sich also im Durchschnitt jede Zelle des Restparenchyms einmal geteilt haben müßte. Erst die restlichen 22 % fallen der Zellvergrößerung zu.

Zeitlich muß die Zellteilungsphase vor der Phase der Zellvolumenvergrößerung liegen, da nach zwei Tagen in der Gewebsvolumeneinheit der C-Tiere mehr Kerne und Zellen als nach elf Tagen zu finden sind.

Die Frage, ob es sich bei der Teilung von Kernen und Zellen der C-Tiere um amitotische Vorgänge handelt, kann hier besprochen, aber nicht beantwortet werden. Ihre Klärung bleibt weiteren, speziell auf sie ausgerichteten Versuchen vorbehalten. Ein großer Teil der mitotischen Teilungsvorgänge wurde ausgeschaltet. In den Präparaten der C-Tiere beobachteten wir keine sicheren mitotischen Endphasen mit Kern- oder Zellteilungen, dagegen waren vereinzelt Kernteilungsformen zu sehen, die den Schilderungen der Amitose entsprechen. Im Hinblick auf die relativ kleine Anzahl doppelkerniger Zellen wäre zu bedenken, ob nicht hin und wieder eine der ansonsten so ausgesprochen seltenen amitotischen Zellteilungen stattgefunden haben könnte. Zur Frage, ob geschädigte Mitosen noch zu einer Zellteilung führen können, fanden wir keine Literaturangaben.

Viele große Kerne der C-Tiere, die den großen Zellen entsprechen - das Gesetz der Kern-Plasmarelation zwingt Kern- und Zellplasma, ein konstantes Mengenverhältnis zueinander aufrecht zu erhalten -, weisen am 11. Regenerationstag etwa das doppelte, teilweise das vierfache Volumen von den meisten Kernen der K-Tiere auf. Gemessen an der relativ kleinen Zahl der doppelkernigen Zellen mit kleinen Kernvolumina deutet das darauf hin, daß anscheinend der Weg des geringeren Widerstandes zur Aufrechterhaltung der Kern-Plasmarelation über die Volumenvergrößerung, weniger über die Teilung des Kernes, führt. Den Volumenverdoppelungen liegt möglicherweise eine amitotische "Endoschisis" oder "innere Teilung" zugrunde. Die beobachtete Klumpenbildung des Chromatins, über die auch GIORDANO und GRAMPA berichten, spricht nämlich nicht für eine Chromosomenzeichnung im Sinne einer "Fadenmetamorphose" und damit für einen mitotischen Vorgang. Eben- sowenig wahrscheinlich ist die Kernvergrößerung durch abortive Mitosen, da diese nur nach sehr geringen bzw. einmaligen Colchizingaben beschrieben werden (GERMERSHAUSEN).

Aus unseren Untersuchungen können wir schließen, daß auch unter Verabreichung von Colchizin in mitosehemmenden Dosen eine Regeneration der Restleber nach Zwei-Drittel-Resektion des Organs bis zur Normalgröße stattfindet. Gut ein Drittel der Regeneration wird auf dem Boden von Zellteilungen bestritten. Ein knappes Drittel fällt der Volumenvergrößerung der Zellen zu, die zeitlich nach der Phase der Zellteilung auftreten dürfte. Dabei weist der größte Anteil der Zellen einen großen Zellkern auf, eine kleinere Zahl von Zellen zeigt Doppelkerne.

Wie weit dieser Regeneration mitotische oder amitotische Vorgänge, sei es in unbeeinflusster, sei es in gestörter Form, zugrunde liegen, kann hier nicht geklärt werden. Eine Beantwortung dieses Problems ist besonderen Versuchen vorbehalten.

ZUSAMMENFASSUNG

Im Tierversuch wurde die Frage geprüft, ob und in welcher Weise sich die nach Zweidrittel-Resektion belassene Restleber bei Ausschaltung der Mitose-tätigkeit durch Colchizin regeneriert.

In einem Vorversuch wurde die wirksame Colchizindosis ermittelt, da die in der Literatur gemachten Angaben sich für die geplanten Versuche als zu hoch erwiesen.

Im Hauptversuch wurde anhand der Lebergewichte und dem feingeweblichen Bild unter Berücksichtigung der Zellkerngröße, der Zahl der Doppelkernigen, der Mitoserate und der Zellzahl festgestellt, daß unter Colchizin selbst in toxischen Dosen die Leberregeneration nach Zweidrittel-Resektion gewichtsmäßig der von Kontrolltieren gleich ist. Gegenüber den Kontrollen ist jedoch die Zellneubildung um etwa 22 Prozent vermindert. Die einzelne Leberzelle ist dementsprechend größer. Die Frage, ob die Zellneubildung unter Colchizin amitotischer Natur ist, muß durch weitere Untersuchungen geklärt werden.

Der Beschreibung der Versuche vorangestellt sind Abrisse unserer derzeitigen Kenntnisse über Bedeutung und Formen der Amitose und Mitose. Auch die Eigenschaften des Colchizins, insbesondere im Hinblick auf sein Verhalten als Cytostatikum, sind abgehandelt.

LITERATURVERZEICHNIS

- Albrecht, M. Mitosehemmung im Knochenmark. Acta haemat. (Basel) 13, 8-13 (1955)
- Beams, H. W.,
King, R. L. The Origin of binucleate and large mononucleate Cells in the Liver of the Rat. Anat. Rec. (Philadelphia) 83, 281-297 (1942)
- Benninghoff, A. a) Zur Kenntnis und Bedeutung der Amitose und amitose-ähnlicher Vorgänge. S. Ber. d. Ges. z. Beförderung der ges. Nat. -Wissensch. (Marburg) 7 (1922)
b) Lehrbuch der Anatomie des Menschen II. Verl. Urban & Schwarzenberg München/Berlin (1952)
- Bucher, N.,
Glinos, A. The Effect of Age on Regenerating of Rat Liver. Cancer Res. (Chicago) 10, 324-331 (1950)
- Bucher, O. Die Amitose der tierischen und menschlichen Zelle. Protoplasma, Handb. d. Protoplasmaforschung 6/E1 Springer-Verl. (Wien) (1959)
- Busanny-Caspari, W. Die Leberregeneration nach Teilhepatektomie. Münch. Med. Wochenschrift 1760 f. (1958)
- Clara, M. Untersuchungen an der menschlichen Leber über die Kerngrößen in den Leberzellen. Zschr. mikrosk.-anat. Forsch. (Leipzig) 22 (1930)
- Cook, J. W.,
Loudon, J. D. Colchizine. The Alkaloids, Chemistry and Physiology II. Academic Press Inc. Publishers (New York), 261-329 (1952)
- Domagk Histologische Veränderungen an experimentellen und menschlichen Tumoren nach Darreichung von Cytostatika. Dtsch. med. Wschr. (Stuttgart) 21, 801-806 (1956)
- Druckrey, Danne-
berg, Schmähl Zellteilungshemmende Gifte. Arzneimittel-Forsch. (Aulendorf) 3, 151-161 (1953)
- Eichholz, F. Lehrbuch d. Pharmakologie. Springer-Verlag (Berlin) (1942)
- Fühner, H. Die Colchizingruppe. Handb. d. experiment. Pharmakologie II/1, Springer-Verlag (Berlin), 493-507 (1920)
- Gebhard, H. Pharmakologie und Toxikologie. Verl. Müller & Steinicke (München 1956)

- Germershausen, M. Über Kernveränderungen bei mitoseschädigenden Faktoren. Medizin. Dissertation (Mainz, 1951)
- Giordano, Grampa Mitosen bei experimenteller Leberregeneration unter Colchizinwirkung. Zbl. allg. Path. (Jena) 86, 25-29 (1950)
- Harkness, R. D. Regeneration of Liver. Brit. Med. Bull. (London), 13/2, 87-93 (1957)
- Heilmeyer, Die Therapie der chronischen Leukämien. Handb. d.
Begemann Inn. Med. II, Springer-Verl. (Berlin), 615-625 (1951)
- Heilmeyer, Klinik und Pharmakologie des Urethans und anderer cyto-
Pirwitz statischer Stoffe. Beiheft z. Med. Mschr. (Stuttgart) 4
- Heitzmann, St. Ausgedehnte Regenerationserscheinungen der Leber in
einem Fall von Sublimatvergiftung, mit besonderer Be-
rücksichtigung der Mitosen und Amitosen. Beitr. path.
Anat. (Jena) 64, 401-435 (1918)
- Herxheimer, Regeneration und Hypertrophie der Leber. Handb. der
Thölde pathol. Anatomie, 5/1, 988-1030 (1930)
- Hintzsche, E. Statistische Probleme aus der Kerngrößenforschung.
Experientia (Basel) 1, 103-110 (1945)
- Hort, W. Quantitative histologische Untersuchungen am wachsen-
den Herzen. Virchows Arch. Path. Anat. (Berlin) 323,
223-242 (1953)
- Jacobj, W. a) Über das rhythmische Wachstum der Zellen durch Ver-
doppelung ihres Volumens. Roux' Arch. Entw. Mech.
(Berlin) 106, 124-192 (1925)
b) Die verschiedenen Arten des gesetzmäßigen Zellwachs-
tums und ihre Beziehung zu Zellfunktion, Umwelt,
Krankheit, maligner Geschwulstbildung und innerem
Bauplan. Roux' Arch. Entw. Mech. (Berlin) 141, 584-692
(1942)
- Jerusalem, Ch. Über das Kernwachstum durch 'innere amitotische' Teil-
ung. Verh. Anat. Ges. (Jena), 108-119 (1959)
- Kantner, M. Die Wirkung oral verabreichten Colchizins auf die Leber
der Ratte. Anat. Anz. (Jena) 98, 16 f. (1951)
- Lettré, H. Über Mitosegifte. Ergebnisse der Physiologie, biologi-
schen Chemie und experimentellen Pharmakologie,
Springer-Verl. (Berlin), 379-452 (1950)

- Lettré, H.,
Fernholz, H. Beitrag zur Beziehung zwischen der Mitosegiftwirkung und der Konstitution von Colchizinderivaten. Hoppe-Seylers Zschr.physiol.Chem. (Leipzig) 278, 175-200 (1943)
- Lettré, H.,
Pirwitz Grundlagen und Praxis chemischer Tumorbehandlung. II. Freiburger Symposion, 17.-19.Juli 1953, Springer-Verl. (Berlin, 1954)
- Linzbach, A. J. a) Die Anzahl der Herzmuskelkerne in normalen, überlasteten, atrophien und mit Corhormon behandelten Herzkammern. Zschr.Kreisl.forsch. (Darmstadt) 41, 641-658 (1952)
- b) Quantitative Biologie und Morphologie des Wachstums einschließlich Hypertrophie und Riesenzellen: Das Wachstum der Zellen. Das physiologische und pathologische Anpassungswachstum. Handb.d.Allgem.Pathologie, Springer-Verl. (Berlin) 6/I, Bd.1, 199-210, 233-254 (1955)
- Marshak, A.,
Walker, A. C. Mitosis in Regenerating Liver. Science (Washington) 101, 94 f. (1945)
- Meister, V. v. Recreation des Lebergewebes nach Abtragung ganzer Leberlappen. Beitr.path.Anat. (Jena) 15/1, 1-116 (1894)
- Miszursky, B.,
Doljanski, L. Effect of Colchicine on the Rat Liver. J. Anat. (London) 85, 523-545 (1949)
- Münzer, F. Th. a) Über die Zweikernigkeit der Leberzellen. Arch.mikrosk. Anat. Entw.mech. (Berlin) 98, 249-282 (1923)
- b) Experimentelle Studien über die Zweikernigkeit der Leberzellen. Arch. mikrosk. Anat. Entw. mech. (Berlin) 104, 138-184 (1925)
- Oettel Wege zur Chemotherapie des Krebses. Arzneimittel-Forsch. (Aulendorf) 4, 691-703 (1954)
- Peter, K. Differenzierung und Mitose. Roux' Arch. Entw. Mech. (Berlin) 143, 1-18 (1947)
- Pfuhl, W. Untersuchungen über zweikernige Zellen, I. Zschr. mikrosk.-anat.Forsch. (Leipzig) 22, 557-578 (1930)
- Pfuhl, Plenk Die Leber. Handbuch der mikrosk. Anatomie des Menschen II. (Springer-Verl. Berlin, 1932)

- Ponfick, E. Experimentelle Beiträge zur Pathologie der Leber. Virchows Arch.path. Anat. (Berlin) 118, 209-249 (1889) u. 138, Suppl. 81-117 (1894)
- Siegenthaler Der heutige Stand der Chemotherapie maligner Tumoren. Schweiz.med. Wschr. (Basel) 31, 871-875 und 32, 899-906 (1956)
- Stary, Z. Leber und Galle. Flaschenträger-Lehnartz, Physiolog. Chemie II, Springer-Verl. (Berlin) 1-569 (1956)
- Stöhr, Möllendorf Lehrbuch der Histologie und mikroskopischen Anatomie des Menschen. Verl. G. Fischer (Jena) (1924)
- Tobler, W. Zur Frage der zweikernigen Zellen. Thèse de Médecine (Lausanne), (1953)
- Wassermann Die Vermehrung der Zellen durch Teilung. Handb.d. mikrosk. Anat. 1/II, Springer-Verl. (Berlin), 34-581 (1929)
- Zaki, F. G. Maximum Mitosis and Water Content in Regenerating Rat Liver. Zschr. Naturforsch. (Tübingen) 96, 239-241 (1954)

An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor Dr. Dr. Busanny -
Caspari für die freundliche Überlassung des Themas der Disser-
tation, für seine Unterstützung bei der Durchführung der Tier-
versuche und für seinen jederzeit gewährten Rat meinen Dank
sagen.

Herrn Professor Dr. Bredt gilt mein besonderer Dank für
die Übernahme des Korreferates.

LEBENS LAUF

Am 25. Dezember 1933 bin ich in Aachen als Sohn des Facharztes Dr. Ludwig Herbert geboren. In Andernach/Rhein besuchte ich ab 1940 drei Jahre die Volksschule und ein Jahr die Oberschule. Ab 1946 nahm ich am Unterricht der Mittelschule in Gedern/Oberhessen teil. Nach zwei Jahren Gymnasium in St. Goarshausen wurde ich von Katzenelnbogen/Taunus aus Schüler des Realgymnasiums in Limburg/Lahn, wo ich 1954 das Abitur bestand.

In Mainz studierte ich zehn Semester Medizin, ein klinisches Semester verbrachte ich an der Universität in Marburg/Lahn. Das Physikum legte ich 1956, das Staatsexamen 1959 in Mainz ab. Nach dem Staatsexamen arbeitete ich ein Jahr im Pathologischen Institut der Mainzer Universität.

Nach Abschluß meiner Medizinalassistentenzeit beabsichtige ich, mir den Facharzt für Innere Medizin zu erwerben.

